

TARTU ÜLIKOOL

Loodus- ja täppisteaduste valdkond

Keemia instituut

Kolloid- ja keskkonnakeemia õppetool

KAIRI NUIJA

**Lämmastikuärastus denitrifikatsiooni – anaeroobse ammoonium  
oksüdatsiooni abil biokilesüsteemis**

Bakalaureusetöö (12EAP)

Keemia

Juhendaja: PhD Ivar Zekker

TARTU 2018

# Sisukord

Infoleht .....	3
Kasutatud lühendite loetelu .....	4
Sissejuhatus .....	5
1. Kirjanduse ülevaade .....	7
1.1 Lämmastikuringe .....	7
1.2 Anammox .....	7
1.2.1 Anammox bakterid .....	10
1.3 Denitrifikatsioon .....	11
1.4 MBBR .....	12
1.5 Reaktorite tüübid .....	13
1.6 Peavoog, kõrvalvoog .....	15
2. Materjal ja metoodika .....	16
2.1 Eksperimendi põhimõtted ja teostamise kirjeldus .....	16
2.2 pH .....	18
2.3 Keemiline hapnikutarve .....	18
2.4 Orgaaniline süsinik .....	19
2.5 Nitrit .....	19
2.6 Ammoonium .....	20
2.7 Nitraat .....	20
3. Tulemuste analüüs .....	21
3.1 KHT .....	21
3.2 C/N suhe .....	23
3.3 KHT/TN suhe .....	24
3.4 $\text{NO}_2^-/\text{NH}_4^+$ suhe .....	26
4. Kokkuvõte .....	29
Summary .....	30
Kasutatud kirjandus .....	32
Lisad .....	35
Tänu sõnad .....	36

# Infoleht

## **Lämmastikuärastus denitrifikatsiooni – anaeroobse ammooniumi oksüdatsiooni abil biokilesüsteemis**

Viimastel aastakümnetel on reoveepuhastuses toimunud suur areng. Tavapäraste nitrifikatsiooni ja denitrifikatsiooni juurde on lisandunud uus ning paljutootav reoveepuhastuse protsess – anaeroobne ammooniumi oksüdatsioon.

Käesolevas bakalaureusetöös uuriti lämmastikuärastuse läbiviimist denitrifikatsiooni ja osalise nitrifikatsioon/anaeroobse ammooniumi oksüdatsiooni protsesside kaudu. Autotroofset lämmastikuärastust tõhustati peavoo ja kõrvalvoo vaheldamise abil. Tulemused näitavad, et liikuvate biokilekandjatega reaktor on võimeline reoveest autotroofselt lämmastiku eemaldama lisaks kõrvalvoole ka peavoos, kus on tunduvalt madalam temperatuur ja kõrgem orgaanilise süsiniku sisaldus.

CERCS kood: T270 - Keskkonnatehnoloogia, reostuskontroll

## **Nitrogen removal denitrification – anaerobic ammonium oxidation process in biofilm reactor**

In recent decades, great progress has been made in wastewater treatment. To the conventional nitrification and denitrification has been added a new and promising wastewater treatment process – anaerobic ammonium oxidation.

The aim of the Bachelor's thesis was to study the nitrogen removal through denitrification and nitrification/anaerobic ammonium oxidation processes. The autotrophic nitrogen removal was made more effective by switching the mainstream with sidestream. The results show that a moving bed biofilm reactor is able to remove autotrophic nitrogen from wastewater, in addition to the sidestream, in a mainstream with significantly lower temperatures and high organic carbon content.

CERCS code: T270 – Environmental technology, pollution control

## **Kasutatud lühendite loetelu**

Anammox (Anaerobic Ammonium Oxidation) – anaeroobne ammooniumi oksüdatsioon

BHT – biokeemiline hapnikutarve

C/N – süsiniku lämmastiku suhe

KA – kuivaine

KHT – keemiline hapnikutarve

MBBR (Moving Bed Biofilm Reactor) – liikuvate kandjatega biokilereaktor

p/m – pööret minutis

TOC (Total Organic Carbon) – orgaaniline süsinik

TN (Total Nitrogen) – kogu lämmastik

## Sissejuhatus

Järjest enam nõuavad puhast vett nii suurenev rahvastikuarv, kiire linnastumine kui ka suurtööstuste arvu kiire kasv. Inimtegevuse tagajärjel reostatud vesi tuleb enne keskkonda tagasi viimist puhastada orgaanilistest ja anorgaanilistest saasteainetest. Reovesi, mis sisaldab suuremal määral lämmastikku, võib loodusesse sattudes olla mürgine paljudele veeorganismidele. Kõik reoveepuhastusjaamad pole suutelised tööstuste poolt tekitatud suure lämmastikuisaldusega reovett puhastama. Tänapäeval on mitmeid bioloogilisi lämmastiku eemaldamise tehnoloogiaid, millega tagatakse parem kvaliteet looduslikule veele. Peamiselt toimub lämmastiku ärastamine nitrifikatsiooni ja denitrifikatsiooni meetodeid kasutades, vähemal määral anaeroobse ammooniumi oksüdatsiooni ehk anammox protsessiga. Anammox protsessi on võimalik tõhusamaks muuta peavoo ning kõrvalvoo vahetamise abil. Peavooga optimeerimise korral on reaktoris temperatuur 15 °C ning orgaanilise aine sisaldus kõrge. Kõrvalvooga optimeerimise ajal jääb temperatuur reaktoris 24 °C juurde ning orgaanilise aine sisaldus on pigem madal. Peavoo (munitsipaalorevesi) ning kõrvalvoo (settevesi) käitlemine toimub 8 nädalaste tsüklite kaupa.

Nitrifikatsioon - anaeroobne ammooniumi oksüdatsioon ehk deammonifikatsioon on uudne protsess, mille abil muudetakse osa reovees olevast ammooniumist oksüdeerimisel nitritiks ja seejärel anoksiliselt vastavad ühendid molekularseks lämmastikuks [1]. Tänu sellele on muutunud kogu inimkonna arusaam lämmastikuringest ning sellega koos on ümber kujunemas reovee käitlemise kontseptsioon [2]. Anammox protsess avastati esmakordselt 1990. aastate alguses ning pärast seda on tehnoloogiat palju edasi arendatud. Tänapäeval on tegu juba väga efektiivse meetodiga [3]. Protsessis osalevate bakterite olemasolu ennustati ette 1970. aastatel termodünaamiliste arvutuste järgi. Esimene täismahus töötav anammox reaktor ehitati 2007. aastal Hollandisse Waterboard Hollandse Delfti reoveepuhastusjaama. Nüüdisajal on kogu maailmas üle 100 täissuuruses anammox süsteemil töötava reoveepuhastusjaama [4].

Anammox tehnoloogia kasutamine on suurepärane alternatiiv reovee puhastamises, kuna võrreldes analoogsete protsessidega on selle energiavajadus tunduvalt väiksem. Kogu protsessi jaoks vajaminev energia saadakse reovees olevast anorgaanilistest süsinikust ning biomass ehitatakse üles anorgaanilistest lämmastikuühenditest. Anammox tehnoloogiat peetakse reovee puhastamise valdkonnas suureks revolutsiooniks. Mainitud meetod toob kaasa uudse nägemuse

reoveepuhastusest, kus on võimalik reovees sisalduvat anorgaanilist süsinikku ja lämmastikku taaskasutada [2].

Praeguse seisuga on ainuüksi Euroopa Liidus üle 16 000 reoveepuhasti, mis tarbivad aastas elektrienergiat umbes 10 000 GWh. Selline energiatarbimine on meie keskkonna jaoks liiga suur koormus, rääkimata finantskuludest. Töötlemist vajava reovee kogus kasvab igal aastal umbes 7%, mis tähendab veelgi suuremaid kulusid ning energiatarbimist. Sellise tohutu energiakuluka reovee töötlemise tagajärjel tekib kogu Euroopa Liidus igal aastal rohkem kui 27 miljonit tonni süsihappegaasi. Need murettekitavad andmed ongi põhjuseks, miks vajatakse vähem kulukaid ning loodussõbralikumaid reovee puhastamise viise [5].

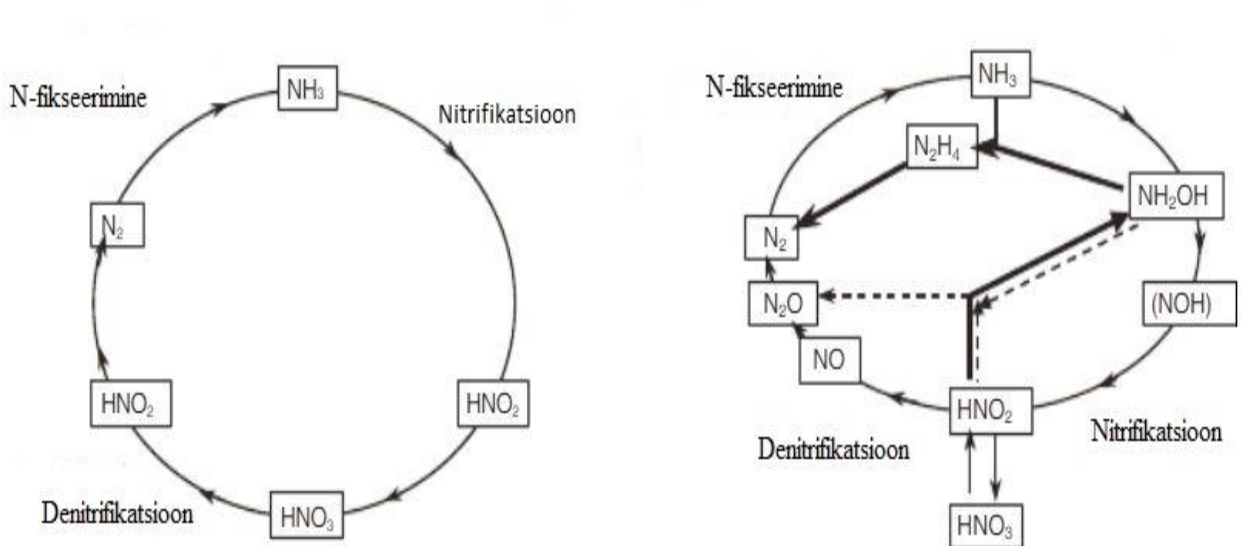
#### **Antud töö eesmärgid:**

1. Peavoos autotroofse lämmastikuärastuse läbiviimine ja tõhustamine kõrvalvoo ja peavoo vaheldamise abil.
2. Orgaanika ning madala temperatuuri mõju hindamine protsessile peavoo ja kõrvalvoo käitlemisel.

# 1. Kirjanduse ülevaade

## 1.1 Lämmastikuringe

Lämmastikuringeks peetakse looduslike protsesside kombinatsiooni, mille käigus muundub lämmastik tsükliliselt atmosfääri gaasilisest vormist anorgaanilisteks ja orgaanilisteks vormideks [6]. Algselt arvati, et lämmastikuringes toimuvad protsessid tsükliliselt. Vene ökoloog Sergei Winogradsky avastas esmakordselt haruldased bakterid, mis oksüdeerivad ammooniumit, kasutades hapniku asemel elektronaktseptorina nitritit. See avastus muutis meie nägemust lämmastikuringest. Winogradsky avastuse järgi toimis lämmastikuringe kolmes faasis: nitrifikatsioon, denitrifikatsioon ja ammonifikatsioon [7].



Joonis 1. Vasakul algne lämmastikuringe, paremal tänapäeval kasutuses olev lämmastikuringe [7].

## 1.2 Anammox

Anaeroobne ammooniumi oksüdatsioon ehk anammox protsess on bioloogiline protsess, mille käigus toimuvad oksüdatiivsed-reduktiivsed muundumised bakterite vahendusel, kus

ammooniumi ja nitriti biotransformatsioonide tulemusel eraldub N<sub>2</sub> (võrrand 1) [8]. Anammox meetod on väga tõhus viis reovee puhastamiseks. Eriti tõhusalt toimib protsess ammooniumirikastes reovetes, kus on madal C/N suhe (< 1) [3].

Anammox reaktsioonil oksüdeeritakse ammoonium, mis on elektrondonor ja redutseerub nitrit, mis on elektronaktseptor. Protsessi käigus eraldub N<sub>2</sub> ega ei teki aga ohtlikke kasvuhoonegaase CO<sub>2</sub> ja N<sub>2</sub>O. Viimane tekib näiteks denitrifikatsiooni protsessil [2].

Anammox protsessi üldreaktsioon [2]:

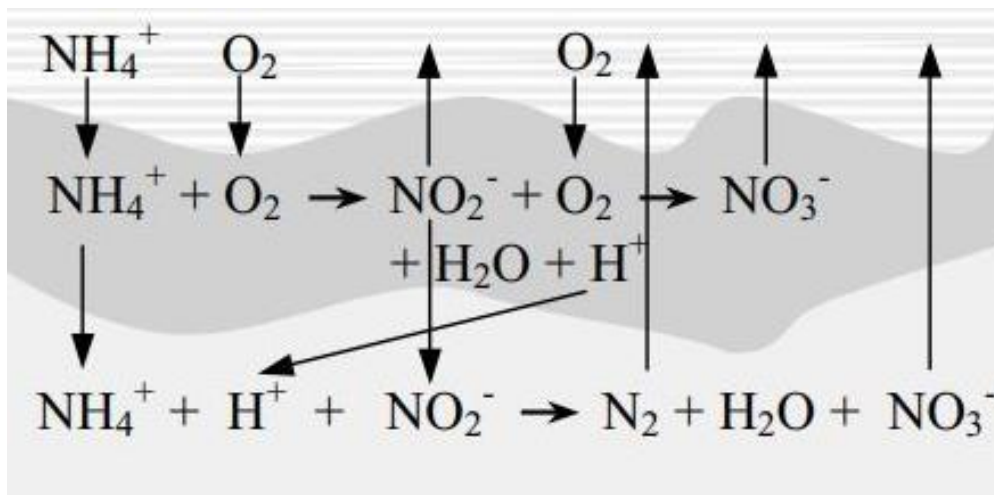


Anammox protsessi vaheetapid [2]:



Anammox reaktsiooni esimeses etapis redutseeritakse nitrit (NO<sub>2</sub><sup>-</sup>) lämmastikoksiidiks (NO) (võrrand 2), seejärel teises etapis reageerib tekkinud lämmastikoksiid (NO) ammooniumiga (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>), mille tagajärjel tekib ebapüsiv vaheühend hüdrasiin (N<sub>2</sub>H<sub>4</sub>) (võrrand 3). Anammox protsessi viimases etapis oksüdeeritakse hüdrasiin (N<sub>2</sub>H<sub>4</sub>) ning tekib N<sub>2</sub> (võrrand 4) [2]. Hüdrasiini esinemine vaheühendina lämmastiku metabolismis on väga harva esinev juhus, mis muudab kogu anammox protsessi veelgi erilisemaks [4].





**Joonis 2. Osalise nitrifikatsiooni ja anammox protsessi reaktsioonid üheastmelises biokilekandatega reaktori süsteemis [2].**

Lämmastiku eemaldamiseks reoveest on varasemalt kasutatud pigem kõrgemat temperatuuri vahemikus 30 – 40 °C. Mida kõrgem on temperatuur, seda paremini toimib lämmastiku eemaldamise protsess. Siiski on viimase aja katsete põhjal järeldatud, et anammox protsess võib edukalt toimida ka temperatuuril 20 °C või isegi alla selle [9]. Praegu kasutuses olevad anammox protsessid töötavad põhiliselt temperatuuril 25 – 40 °C. Lämmastiku eemaldamine kõrgemal temperatuuril võib olla küll tõhusam, kuid samas kulub rohkem energiat. Anammox protsessi rakendamine madalamal temperatuuril võib olla uus jätkusuutlik protsess reovee puhastuses. Juba 2013. aastal tehtud katsete põhjal nähti, et temperatuuri alandamisega 12 °C võib lämmastiku eemaldamise tõhusus olla lausa 90% [2].

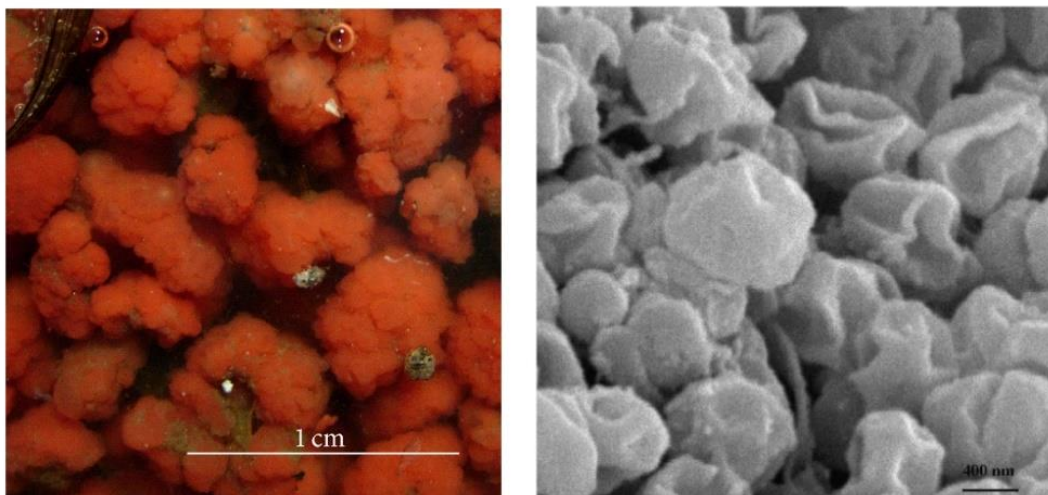
Anammox protsessi eelis võrreldes tavapärase nitrifikatsiooni või denitrifikatsiooniga on vähene hapniku kulu, mistõttu säästab anammox protsess oluliselt rohkem energiat [10]. Hapnikuvajadus võib olla kuni 64% väiksem [11]. Praegu toimivates reoveepuhastusjaamades, kus reovett puhastatakse hapniku abil, on tegevuskulud väga suured. Ammooniumi eemaldamine reoveest anaeroobselt võib anda tegevuskuludelt kokkuhoiu ligi 50% [12]. Teiseks suuremaks eeliseks võib nimetada protsessis osalevaid baktereid, tänu millele pole vajadus lisa orgaaniliste süsinikuallikate järele. Tähelepanuväärne on ka  $\text{CO}_2$  heitkoguse vähendamine, kuna antud bakterid kasutavad seda süsinikuallikana [10]. Paljude reoveepuhastusjaamade reovee väljavoolud võivad olla keskkonnale mürgised, kuna nad muudavad ammooniumi molekulaarseks lämmastikuks ja osaliselt eraldunud nitraati ei ole

tarbitud orgaanilise aine puudumise tõttu. Nende reaktsioonide tulemusel tekkiv molekulaarne lämmastik läheb vabanedes atmosfääri ning nitraat jääb vette, mis võib omakorda põhjustada veekogude eutrofeerumist ehk kinnikasvamist [12].

Molinuevo tõestas, et anammox protsess suudab samaaegselt ühes keskkonnas toimida koos denitrifikatsiooniga. Seetõttu on väga olulised erinevad keskkonnatingimused, näiteks nitriti, nitraadi ja ammooniumi kontsentratsioonid, pH ning temperatuur. Nende tingimustega saavutatakse sobiv tasakaal anammox ja denitrifikatsiooni vahel [13].

### 1.2.1 Anammox bakterid

Anammox protsess toimub tänu spetsiifilistele autotroofsetele bakteritele, mis ei vaja elutegevuseks orgaanilist süsinikku, vaid kasutavad anorgaanilisi lämmastikuühendeid ja  $\text{CO}_2$  [4].



**Joonis 3. Anammox bakterite graanulid [4]. Joonisel näidatud skaala, vasakpoolne cm-tes, parempoolne nm-tes.**

Tänapäeval on teadlased kindlaks teinud viis erinevat perekonda anammox baktereid. Kõik viis perekonda kuuluvad samasse klassi – *Brocadiales*. See klass on omakorda seotud *Planctomycetales* seltsiga. Viis anammox bakterite perekonda on *Candidatus*, *Kuenenia*, *Brocadia*, *Anammoxoglobus* ning *Jettenia* [4]. Neid baktereid on leitud paljudest looduslikest süsteemidest: meresetetest, maismaa ökosüsteemidest, magevee ökosüsteemidest [14].

Anammox bakterid toimivad vaid anoksilises keskkonnas [4], olles samas väga tundlikud erinevatele muutustele. Bakterite kõige suurem puudus on nende liiga aeglane kasvukiirus. Bakterite arvu kahekordistumine võtab 30 – 40 °C juures aega ligi 10 – 14 päeva [15].

Anammox bakteritel on siiski teatav kohandumisvõime keskkonnatingimustega, mis sõltub substraadi kontsentratsioonist, madala kontsentratsiooni juures ei ole võimalik saavutada kõrget bakterite kasvu kiirust, kõrge kontsentratsioon võib muutuda bakterite jaoks inhibeerivaks ning häirida oluliselt nende metabolismi. Anammox protsessis osalevad bakterid vajavad optimaalsel kiirusel toimimiseks piisavas koguses anorgaanilist süsinikku, mis saadakse süsinikdioksiidist ( $\text{CO}_2$ ) [15].

Anammox protsessi inhibeerib kõige enam orgaanilise süsiniku kõrged kontsentratsioonid. Paraku eksisteerivad munitsipaalreovees nii orgaaniline süsinik, anorgaaniline süsinik kui ka ammoniaak, mis võivad kõrgete kontsentratsioonide korral inhibeerida anammox protsessi. Seetõttu üritatakse järjest enam leida selliseid bakterite kultuure ja nende adapteerimist, mis suudavad optimaalselt hoida lämmastikuärastust anammox protsessi abil töös, käitlemaks orgaaniliste ühendite rikast vett vähendamaks käitluskulusid [15].

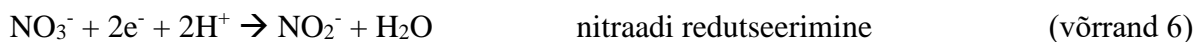
### 1.3 Denitrifikatsioon

Denitrifikatsiooniks nimetatakse oksüdeeritud lämmastikuühendite redutseerimise protsessi (võrrand 5), mille käigus muunduvad reovees olevad nitraat ( $\text{NO}_3^-$ ) ja nitrit ( $\text{NO}_2^-$ ) molekularseks lämmastikuks (võrrand 6). Kogu protsess toimub mitmes vaheetapis, kus esmalt tekivad lämmastikoksiid ( $\text{NO}$ ) (võrrand 7) ja vähemal määral dilämmastikoksiid ( $\text{N}_2\text{O}$ ) (võrrand 8) redutseeruvad protsessi lõpuks molekularseks lämmastikuks ( $\text{N}_2$ ) (võrrand 9).

Denitrifikatsiooni muundumise jada [16]:



Denitrifikatsiooni vaheetapid [16]:



Denitrifikatsioon on lämmastikutsükli viimane osa [6]. Denitrifikatsiooni protsess toimub anoksilises keskkonnas, kus puudub hapnik [17]. Põhilised heterotroofsed bakterid, mille tõttu toimub denitrifitseeriv protsess, on *Thiobacillus denitrificans* ja *Micrococcus denitrificans*, samuti *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Achromobacter*, *Serratia paracoccus* ja veel paljud teised liigid [18].

## 1.4 MBBR

MBBR ehk liikuvate kandjatega biokilereaktorid töötati välja alles 1980. aastate lõpus [19]. Süsteem loodi Euroopa ja Ameerika teadlaste koostööl ning esimene täismahus reaktor avati 1990. aastate alguses Norras [20]. Algselt kasutati neid reaktoreid väikses mahus tööstuslike ja kodumajapidamise reovete puhastamiseks, nüüdisajal on enam kui 22 riigi reoveepuhastusjaamades täismahulised biokilereaktorite süsteemid [19]. Biokilereaktoritel on mitu eelist võrreldes aktiivmuda protsessil töötavate reaktoritega – puhastusjaamad on väiksemad, liigmuda biomassi kontsentratsioon on madalam [21]. Lisaks veel on biokilereaktoritel madalad optimeerimiskulud ning saavutatakse suhteliselt kõrge heitvee kvaliteet ka madalatel temperatuuridel [19]. Kogu reaktori maht kasutatakse reovee puhastamiseks efektiivselt ära [20].

Biokilereaktorite puhul kasutatakse biokilekandjaid, kuna just nendele kandjatele kogunevad erinevad mikroorganismid [22]. Tavaliselt valmistatakse biokile kandjad madala tihedusega polüetüleenist ( $\rho = 0,95 \text{ g/cm}^3$ ), võimaldades kandjate pinnal püsimise. Kujult on kandjad väikesed silindrid, mille sees on ristlõiked. Läbimõõdult jäävad 10 – 15 mm vahele. Kandjate sisemusse kasvab biofilmi õhukene kiht, mis on optimaalse paksusega (0,1 mm) vaid siis, kui reaktoris toimub pidev ning korrektne segamine [21]. Soovituslik kandjate täitekogus reaktoris peab jääma alla 70% [20]. Kandjaid hoitakse pidevas liikumises mehaanilise seguri või gaasivoo abil.



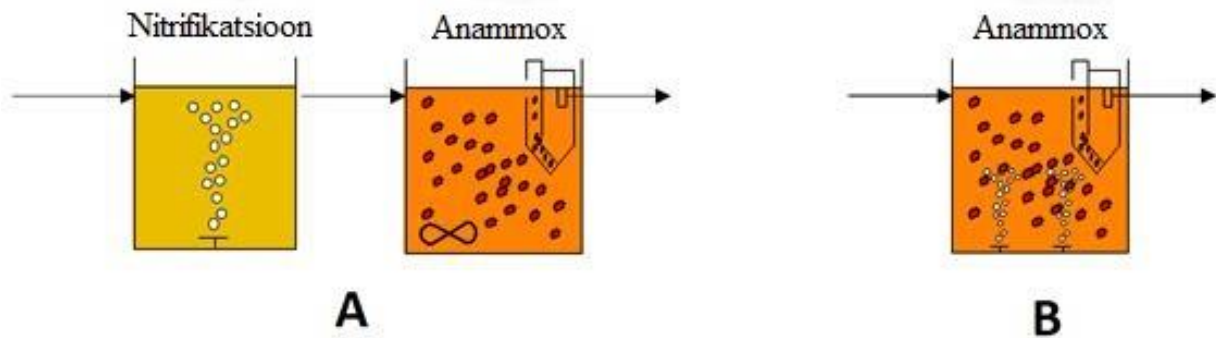
**Joonis 4. Annuskatsetes kasutatud Kaldnes K1 sarnased biokilekandjad.**

Meie kasutame lämmastiku eemaldamiseks anoksilist süsteemi, seega toimub biokilekandjate pidev segamine mehhaanilise seguri abil.

## **1.5 Reaktorite tüübid**

Deammonifikatsiooni alla kuuluvat uuendusliku anammox protsessi saab läbi viia kahes erinevat tüüpi reaktoris: üheastmelises ning kaheastmelises (joonis 5) [23].

Anammox ja osaline nitrifikatsioon suudavad toimida koos ühes reaktoris ning lämmastikuärastus toimub üheastmelise süsteemina [24].



**Joonis 5. A on kaheastmeline anammox reaktor, kus esimeses reaktoris, mis on aereeritav, toimub nitrifikatsioon ning teises reaktoris anammox protsess. B on üheastmeline anammox reaktor, kus nitrifikatsioon ja anammox toimuvad koos ühes reaktoris [23].**

Kaheastmelises protsessis toimub esimeses aereeritavas reaktoris osaline nitrifikatsioon, millele järgneb teises reaktoris anammox protsess. Selline kaheastmeline protsess võimaldab optimeerida mõlemas reaktoris just sellele süsteemile vajalikke tingimusi ning tänu sellele on kogu protsess paremini kontrollitav. Protsessi puuduseks on mahukad reaktorid [23].

Üheastmelises protsessis toimuvad nitrifikatsioon ja anammox ühes reaktoris. Selle protsessi eeliseks on kompaktsus, kuna vaja on vaid üht reaktorit. Üheastmelise reaktori korral on keeruline leida optimaalseid tingimusi nitrifikatsiooni ja anammox protsesside jaoks, et mõlemad protsessid oleksid tasakaalus [23].

Liikuvate kandjatega biokilereaktori protsessi jaoks on sobilikum üheastmeline reaktor, kuna see võimaldab anammox bakteritel kasvatada biokile kihti kandjate sisemusse ning nitrifitseerija bakterid saavad kasvatada biokile kihti kandjate välimisele kihile [23].

## 1.6 Peavoog, kõrvalvoog

Autotroofne lämmastikuärastus anammox protsessi abil võib toimuda nii peavoos kui ka kõrvalvoos. Praegusel ajal töötab enamus reoveepuhastuse reaktoritest siiski denitrifikatsiooni protsessil, mida on lihtsam käivitada ja mis toimib kindlamalt. Peavoo rakendamine reoveepuhastusjaamades, kus lämmastikuärastus toimub anammox protsessi kaudu, on väga suur väljakutse. Põhiliselt segavad peavoo autotroofse käitlemise kasutuselevõttu hetkel madalad temperatuurid ning kõrge orgaanilise süsiniku sisaldus lämmastikukontsentratsioonidega võrreldes, mille tõttu ei toimu lämmastikuärastus piisavalt efektiivselt. Reoveepuhastusjaamades tehtud katsete korral on temperatuuri alandamisega reaktoris anammox bakterite aktiivsus märgatavalt vähenenud. Laboratoorsetes uuringutes on autotroofne lämmastikuärastus toiminud üheastmelises reaktoris anoksilistes tingimustes isegi temperatuuridel alla 15 °C [25]. Teadlased katsetavad järjest enam uusi võimalusi, kuidas hoida anammox baktereid peavoo madalatel temperatuuridel töös ning säilitada nende aktiivsus süsteemis. Üks võimalus selleks on peavoo ning kõrvalvoo vahetamine. Kui liiga pikk peavooga optimeerimise periood muudab anammox bakterid mitteaktiivseks, siis kõrvalvoo kõrgemad temperatuurid aitavad taastada bakterite aktiivsuse ning lämmastikuärastus toimib seeläbi uuesti ka peavoos. Siiski on hetkel veel ebaselge, kuidas hoida anammox baktereid pikaajaliselt stabiilselt aktiivsetena peavoos ning milline on roll orgaanilisel süsinikul protsessi stabiilsusele.

## 2. Materjal ja metoodika

### 2.1 Eksperimendi põhimõtted ja teostamise kirjeldus

Kõikides tehtud annuskatsetes kasutati setteveega täidetud anumates biokilekandjaid. Katsed toimusid liitrise koguruumalaga kahe või nelja kaelaga pudelites.

Kõikides katsetes kasutati biokilekandjad, mis pärinesid 20 liitrisest biokilereaktorist, milles toimusid 8 nädalaste tsüklite kaupa munitsiplaareovee (peavoog) ning settevee (kõrvalvoo) käitlus. Vastavate tsüklite kestel testiti biokilekandjate aktiivsusi erinevate C/N suhete korral. Reaktor oli täidetud 50% ulatuses Kaldnes K1 tüüpi biokilekandjatega ning süsteemi segamiskiirus oli 200 pööret minutis. MBBR süsteem toimis vahelduva aeratsiooniga deammonifikatsiooni (nitrifikatsioon/anammox) protsessil, kus 55 minutit toimus aeratsioon ning seejärel oli 5 minutit anoksilist faasi. Sisendina kasutati ammoniumi. Peavooga reaktori toitmise ajal oli reaktorites temperatuur  $15\text{ °C} \pm 0,5\text{ °C}$ . Kõrvalvoo ajal oli temperatuur  $24\text{ °C} \pm 0,5\text{ °C}$ .

Katsetes kasutatud settevee reovee kogumaht oli 800 ml.

Katserakkudesse lisati vastavad koostisosad:

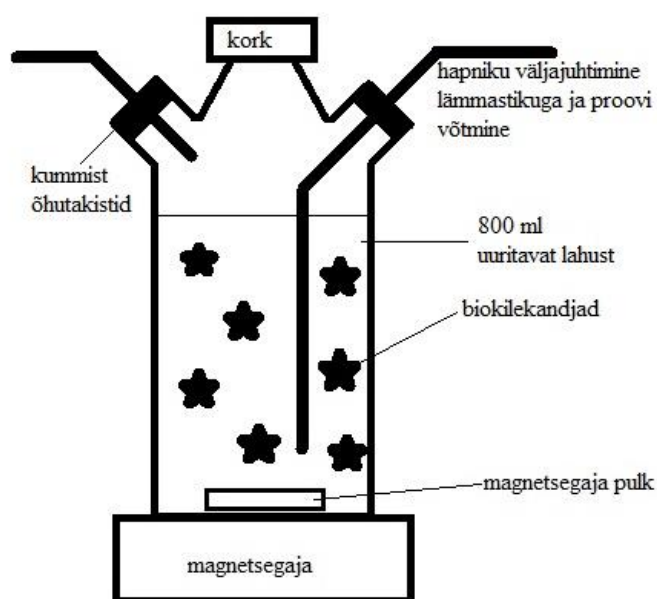
- 2 ml  $\text{NaNO}_2$
- 2ml  $\text{NH}_4\text{Cl}$
- 0,4 g  $\text{H}_2\text{CO}_3$
- 1ml BHT toitelahus fosfaatpuhver
- 1ml BHT toitelahus  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$
- 1ml BHT toitelahus  $\text{CaCl}_2$
- 1ml BHT toitelahus  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$
- 1ml aluseline mikroelementide lahus
- 1ml happeline mikroelementide lahus
- $\text{H}_2\text{O}$



Vastavalt katsetele lisati igal korral erineva kontsentratsiooniga baaslahus, mis koosnes järgmistest ühenditest:

- Peptoon
- Lihaekstrakt
- $\text{CaCl}_2$

Igasse annuskatse katsepudelisse lisati eelnevalt kraaniveega pestud 200 biokilekandjat, mis olid võetud MBBR süsteemist.



**Joonis 6. Annuskatse katsepudel koos 200 biokilekandja ning 800 ml setteveega.**

Valmis reoveelahus, mis sisaldab biokilekandjaid, tuleb õhukindlalt sulgeda korgiga ning deaereerida 15 minutit  $\text{N}_2$ -ga. Lämmastikuga deaereerimine on vajalik selleks, et reoveelahusest välja saada kogu seal olev hapnik.

Pärast deaereerimise lõppu võeti igast katsepudelist 30 – 40 ml proovi. Katsepudelid suleti õhukindlalt ning asetati termokappi, kus temperatuur oli  $25,0\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0,2\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Termokapi temperatuur oli alati konstantne.

Ühtlase lahuse saamiseks oli katsepudelisse varasemalt lisatud magnetsegaja pulk ning termokapis olevate magnetsegajate pöörlemiskiirus oli 700 p/m.

Proove võeti iga kahe tunni järel, kokku 4 erineva ajajärguga proovid (nullproov, 2h proov, 4h proov, 6h proov). Iga katsega tehti kaks kuni kolm paralleeli.

Võetud proovidest määrati nitriti-, ammoonium- ja nitraatlämmastiku kogused, lisaks proovi pH. TOC ja KHT tulemused määrati nullproovist ja 6h proovist.

Iga poole aasta tagant arvutati biokilekandjate kuivkaal. Selleks võeti reaktorist 2-3 x 20 kandjat, mis loputati deioneeritud veega üle ning pandi kuivatuskappi kuivama 24-ks tunniks 105 °C juures. Pärast biokilekandjate esmakordset kuivatamist kaaluti kandjad ära. Seejärel eemaldati kandjatele biomass, kasutades selleks kroomhapet. Pärast biomassi eemaldamist pesti biokilekandjad deioneeritud veega ning pandi uuesti kuivatuskappi 105 °C juurde kuivama 24-ks tunniks. Pärast teist kuivatust arvutati kahe kaalumise tulemuste vahe ning saadi teada biokilekandjate kuivkaal.

## **2.2 pH**

Anammox protsessi katsete puhul on väga oluline hoida pH optimaalses vahemikus, seetõttu tuleb pH-d mõõta pärast iga proovi võtmist. Selleks kasutati Evikon E6115 pH-meetrit, mis kalibreeriti enne katsete algust kahe erineva puhverlahusega (pH 7 ning pH 4). Esmalt mõõdeti annuskatse pH-d enne deaereerimist, ning vajaduse korral korrigeeriti seda kasutades 1 M HCl või 1 M NaOH lahust, et alglahuse pH oleks umbes 7,5.

## **2.3 Keemiline hapnikutarve**

Reovees leidub palju orgaanilist ainet, kuid kõik sellest ei lagune biokeemiliselt. Seetõttu tuleb orgaanilise aine kogusisalduse leidmiseks määrata keemiline hapnikutarve ehk KHT.

KHT näitab orgaanilise aine lagunemist reovees tugevate oksüdeerijate toimel, mille järgi saab hinnata vee reostustaset [26]. Mida suurem on KHT näit, seda rohkem on reovees oksüdeeruvat orgaanilist ainet. Oksüdeeruv orgaaniline aine tarbib katses olevat lahustunud hapnikku.

Lahuses olev orgaaniline aine muudetakse tugeva oksüdeerija toimetel happelises keskkonnas süsinikdioksiidiks ja veeks. Keemilise hapnikutarve kogus arvutatakse välja ära reageerinud tugeva oksüdeerija koguse põhjal [27].

Katsetes kasutati küvette, millega saab määrata keemilist hapnikutarvet vahemikus 100 – 2000 mg/l, ning oksüdeerujaks on kaaliumdikromaat ( $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$ ). Pärast esmast küveti loksutamist lisati 2 ml proovi ning loksutati uuesti. Küvett asetati Nanocolor Vario 3 masinasse ning kuumutati 148 °C juures 2 tundi. Seejärel loksutati uuesti ning pandi külma vette jahtuma. Keemiline hapnikutarve määratakse spektrofotomeetriliselt Hach Lange DR 2800 masinaga, kus mõõdeti kroomi  $\text{Cr}^{3+}$  neelduvust lainepikkusel 605 nm. Spektrofotomeeter andis KHT kontsentratsiooni ühikuga mg  $\text{O}_2$ /l, mis korrutati vajadusel lahjendusega läbi.

## 2.4 Orgaaniline süsinik

Lahustunud TOC sisaldus näitab meile, kui palju on reovees orgaanilist süsinikku. Orgaanilise süsiniku üldsisalduse järgi saame hinnata vee kvaliteeti, mis on väga oluline teave paljude veetööstussüsteemide jaoks [28].

Proov valmistati ette 25 ml mõõtekolbi, kuhu tehti 50-kordne lahjendus. Seejärel lisati 10 tilka 2 M  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , mis on vajalik madala pH tekitamiseks, et süsihappegaas eemalduks. Enne proovi masinasse panekut kasutati  $\text{N}_2$  süsihappegaasi väljajuhtimiseks proovist. Orgaaniline süsinik määrati analytically multi N/C UV-Vis analüsaatoriga, mis analüüsib proove kolm korda ja võtab kolmest saadud tulemusest keskmise. Analüsaator annab TOC kontsentratsiooni ühikuga mg/l, mis korrutati vajadusel lahjendusega läbi.

## 2.5 Nitrit

25 ml mõõtkolbi lisati 0,1 ml proovi ning kolb täideti märgini deioneeritud veega. Lisati 0,5 ml  $\text{NO}_2\text{-N}$  sulfanüülamiidi ja 0,5 ml diamiini. Pärast 10 minutilist seismist muutub proov roosakalillaks. Tulemus mõõdetakse spektrofotomeetriliselt 10 mm küvetiga Hach Lange DR 2800

masinas. Spektrofotomeeter andis nitriti kontsentratsiooni ühikuga mg/l, mis korrutati 250-kordse lahjendusega läbi.

## **2.6 Ammoonium**

Ammooniumi sisalduse määramiseks kasutati Nessleri kolorimeetrilist meetodit. 25 ml mõõtkolbi lisati 1 ml proovi ning kolb täideti  $\frac{3}{4}$  ulatuses deioneeritud veega. Lahusele lisati 3 tilka mineral stabilizerit ning 2 tilka polyvinyl alkohol dispersing agent. Mõlema substraadi kogus on sama, kuid tilkade kogus erinev. Mõõtkolb täideti märgini deioneeritud veega ning segati läbi. Seejärel lisati 1 ml Nessleri reagenti ning käivitati stopper. Pärast Nessleri reagenti lisamist oodati 2 minutit ning seejärel mõõdeti proovi spektrofotomeetriliselt, kasutades tollist küveti ning Hach Lange DR 2800 masinat. Spektrofotomeeter andis ammooniumi kontsentratsiooni ühikuga mg/l, mis korrutati 25-kordse lahjendusega läbi.

## **2.7 Nitraat**

1 ml proovi aurustati vesivannil koos 1 ml naatriumsalitsülaadiga. Pärast proovi aurustumist jahutati proov maha ning lisati 1 ml  $H_2SO_4$ , seejärel oodati 15 minutit. Pärast ootamist lisati 8 ml deioneeritud vett ning 10 ml NaOH + EDTA lahust. Proov viidi üle mõõtkolbi ning täideti deioneeritud veega märgini. Mõõtkolb valiti vastavalt proovi värvusele – mida tumedam kollane, seda suurem lahjendus tehti. Kasutati 25 ml, 50 ml või 100 ml mõõtkolbi. Tulemus mõõdeti spektrofotomeetriliselt Hach Lange DR 2800 masinaga, kasutades tollist küveti. Spektrofotomeeter andis nitraadi kontsentratsiooni ühikuga mg/l, mis korrutati tehtud lahjendusega läbi.

### 3. Tulemuste analüüs

Annuskatseid tehti perioodil 10.11.2016 – 13.03.2018. Sel ajavahemikul uuriti liikuvate biokilekandjatega üheastmelise piloot- reaktori kandjaid ning selles olevat settevett. Proovidest mõõdeti KHT, TOC, pH, lisaks veel nitraadi, nitriti ning ammooniumi sisaldus. Katseperiood kestis kokku ühel päeval 8 tundi ning selle aja jooksul tehti 4 erineva ajajärguga katseid.

Reaktori optimeerimise temperatuur peavoo korral oli 15 °C ning kõrvalvoo korral 24 °C. Peavoog kestis madala lämmastikuga keskkonnas kokku 8 nädalat, seejärel kõrvalvoog 8 nädalat kõrge lämmastikuga keskkonnas. Peavoo ning kõrvalvoo vaheldamine on oluline selleks, et peavoos toimuks autotroofne lämmastikuärastamine tõhusamalt. Anammox bakterite aktiivsus muutub väikeseks, kui nad on liiga pikalt peavoo madalama temperatuuri keskkonnas ning kõrvalvooga opereerimisel kõrgemal temperatuuril ning antud reoveega protsessi rikastamisel anaeroobsete autotroofsete bakteritega protsess tõhustub.

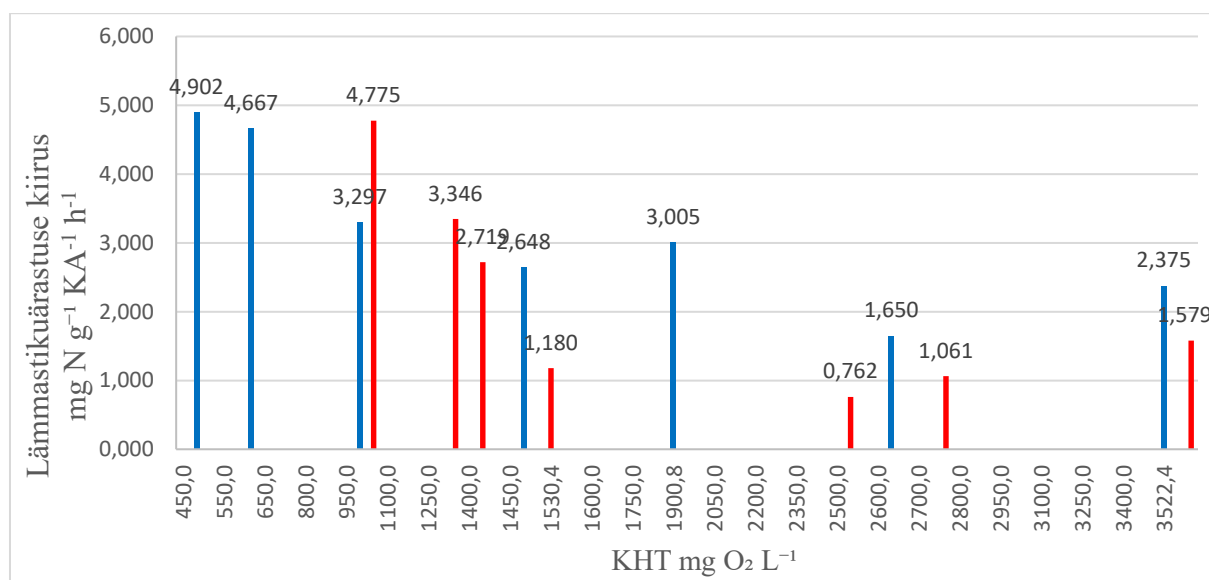
Anammox protsessis on väga olulisel kohal reaktsioone läbi viivad bakterid. Siiani on avastatud viis erinevat perekonda autotroofseid lämmastikuärastajaid, meie reaktoris on nendest vaid kaks: *Brocadiaaceae* ning *Planctomycetaceae*. Täpsemad bakterite proportsioonid ning nimed on ära toodud Lisa 1-s.

#### 3.1 KHT

Lämmastikuärastuse kiirus sõltub suuresti reovee kontsentratsioonist ehk orgaanilise aine sisaldusest. Tavapärasel reovees jääb KHT kontsentratsioon 250 – 800 mg/l vahele. Tööstuslikus reovees on kontsentratsioon tavaliselt suurem, olmereovees väiksem [13]. KHT kontsentratsiooni muutmine muudab omakorda mikroobide populatsioone. Mida kõrgem on KHT kontsentratsioon, seda rohkem kasvavad heterotroofsed bakterid, mille tulemusel väheneb anammox bakterite aktiivsus. Ühe uuringu tulemusel järeldati, et anammox protsess toimib ainult KHT kontsentratsioonini 292 mg/l. Kui kontsentratsioon muutub suuremaks, hakkab see anammox baktereid inhibeerima ning lämmastikuärastuse kiirus väheneb. KHT kontsentratsiooni muutus võib kaasa tuua veel heterotroofse biomassi kontsentratsiooni muudatuse, mis omakorda mõjutab anammox baktereid [29].

Peavoo katsete korral 15 °C juures opereerimise perioodil toimus lämmastikuärastus madalal KHT kontsentratsioonil suuremal kiirusel. Mida suuremaks muutus KHT kontsentratsioon, seda aeglasemaks muutus autotroofne lämmastikuärastus.

Lämmastikuärastus oli meie katsete järgi kõige efektiivsem reaktori peavoo madalal KHT kontsentratsioonil 480 mg O<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>, mille juures toimus lämmastikuärastus kiirusel  $\approx 5$  mg N/g<sup>-1</sup> KA<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>. 2600 mg O<sub>2</sub> L<sup>-1</sup> KHT puhul oli lämmastikuärastuse kiirus langenud 1,6 mg N/g<sup>-1</sup> KA<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup> kohta. Täpsem graafik KHT sõltuvusest lämmastikuärastuse kiirusesse peavoo optimeerimise perioodil 15 °C juures ning kõrvalvoo optimeerimise perioodil 24 °C juures on leitav jooniselt 7.



**Joonis 7. Lämmastikuärastuse kiiruse võrdlus erinevate KHT kontsentratsioonide korral nii peavoo (sinine) kui ka kõrvalvoo (punane) korral.**

Kõrvalvoo korral madala C/N suhtega ( $C/N < 3$ ) settevett reaktori optimeerimisel kasutades 24 °C juures peaks lämmastikuärastus toimuma efektiivsemalt kui peavoo samadel KHT kontsentratsioonidel. KHT kontsentratsioonil  $\approx 1000$  mg O<sub>2</sub>/L on peavoo korral kiiruseks 3,297 mg N/g<sup>-1</sup> KA<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>, kuid kõrvalvoo korral 4,775 mg N/g<sup>-1</sup> KA<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>. Kõrgematel KHT kontsentratsioonidel muutub peavoo kiirus suuremaks võrreldes kõrvalvoo kiirusega. KHT kontsentratsioonil  $\approx 2650$  mg O<sub>2</sub>/L on peavoo korral kiiruseks 1,650 mg N/g<sup>-1</sup> KA<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>, kuid

kõrvalvoo korral KHT kontsentratsioonil  $\approx 2550 \text{ mg O}_2/\text{L}$  jääb kiirus poole väiksemas  $0,762 \text{ mg N/g}^{-1} \text{ KA}^{-1} \text{ h}^{-1}$ .

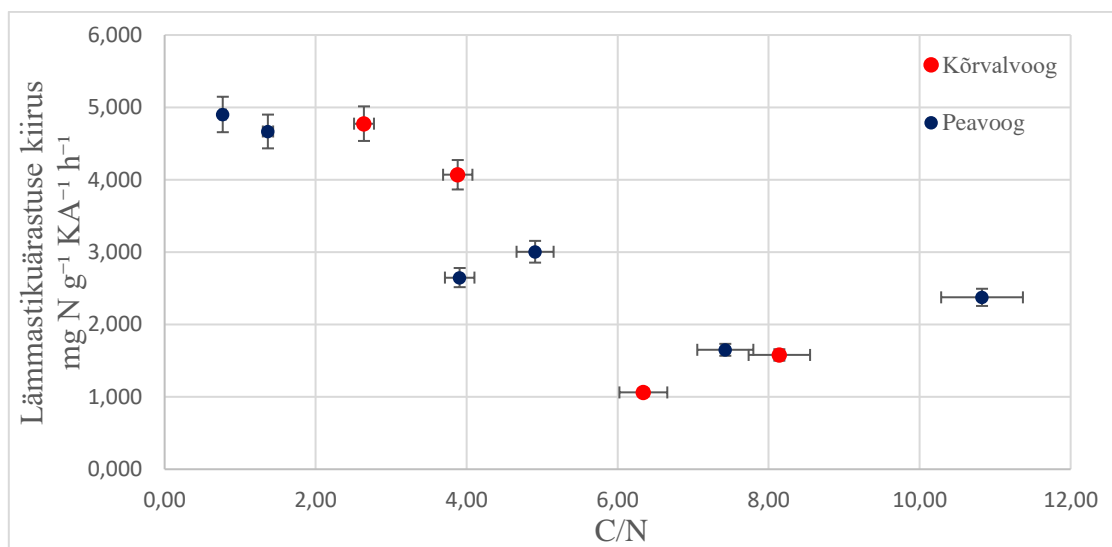
Tulemuste põhjal võib järeldada, et KHT kontsentratsioonide sõltuvus nii lämmastikuärastuse kiirusesse kui ka temperatuuri on ootuspärane ning anammox protsess ja denitrifikatsioon toimusid efektiivsemalt madalamatel KHT kontsentratsioonidel.

### 3.2 C/N suhe

Erinevad uuringud on näidanud, et C/N suhe mõjutab väga suurel määral lämmastikuärastust süsteemis. Suurenenud C/N suhe aitab kaasa heterotroofsete bakterite kasvule. Üheastmelises reaktoris, kus toimub nii osaline nitrifikatsioon, anammox kui ka denitrifikatsioon, on madala C/N suhte korral eelistatud anammox bakterite kasv [29]. Tööstuslikus reovees on tavapäraseks C/N suhteks 3:1. Enamus praegusel ajal anammox protsessil toimivaid reoveepuhastusjaamu töötavad tingimustes, kus temperatuur on suurem kui  $25^\circ\text{C}$  ning C/N suhe  $< 0,5$ , kuna biogaasina on reoveest enamik orgaanilist süsinikku eemaldatud. Siiski järjest enam tehakse uuringuid ka kõrgematel C/N suhetel [30] biopuhastite tarbeks, mis ei kasuta kääritust. Ühe uuringu tulemuste järgi 2015. aastal järeldati, et peamiselt toimus lämmastikuärastus väga madalate C/N suhete korral  $0,5 - 1,0$  [31]. Teises uuringus katsetati lämmastikuärastust kõrgematel C/N suhetel nagu 1,1; 1,5; 2,0; 2,5. Tulemused näitasid, et anammox protsessi efektiivsus püsis 77,3% juures kuni C/N suhteni 1,5. Alates suhtes 2,0 hakkas lämmastikuärastuse efektiivsus vähenema, langedes 30,8% peale. See võib olla tingitud piiratud nitriti tootmisest. [29]. Lackneri ja Horni katsete tulemused näitasid, et C/N suhtega 3:1 toimub lämmastikuärastus temperatuuril  $30^\circ\text{C}$  maksimaalselt kiirusega  $1,9 \text{ kg-N m}^{-3} \text{ d}^{-1}$  ning keskmiselt kiirusega  $1,1 \text{ kg-N m}^{-3} \text{ d}^{-1}$ . Sama katse käigus viidi reaktori optimeerimise temperatuur  $17,7^\circ\text{C}$  juurde ning siis langes lämmastikuärastuse kiirus  $0,25 \text{ kg-N m}^{-3} \text{ d}^{-1}$  [30]. Kõrgetel C/N suhetel (6:1 – 10:1) on domineerivaks denitrifikatsioon, madalamatel suhetel (1:1 – 3:1) domineerib pigem anammox.

Katsete tulemused näitavad, et mida suuremaks läheb C/N suhe, seda väiksemaks muutuvad lämmastikuärastuse kiirused. Täpsem graafik C/N suhte kohta lämmastikuärastuse kiirusesse joonisel 8. Graafikult on näha, et lämmastikuärastus toimib kolme erineva kiirusega. C/N suhte

korras 0 – 3 jääb lämmastikuärastuse kiirus  $\approx 5 \text{ mg N/g}^{-1} \text{ KA}^{-1} \text{ h}^{-1}$  nii peavoo kui ka kõrvalvoo korral. Kui C/N suhe jääb vahemikku 3 – 5, toimub peavoo ja kõrvalvoo korral lämmastikuärastus kiirusega  $\approx 3 \text{ mg N/g}^{-1} \text{ KA}^{-1} \text{ h}^{-1}$ . C/N suhtega 6 ning rohkem jääb lämmastikuärastuse kiirus alla  $2 \text{ mg N/g}^{-1} \text{ KA}^{-1} \text{ h}^{-1}$ , hakates uuesti kiirenema, kui C/N suhe läheb suuremaks kui 10. Kõrgemal C/N suhtel toimub lämmastikuärastus valdavalt denitrifikatsiooni protsessil, madalama suhte korral autotroofsel protsessil.



**Joonis 8. C/N sõltuvus lämmastikuärastuse kiirusesse peavoo ning kõrvalvoo katsete korral.**

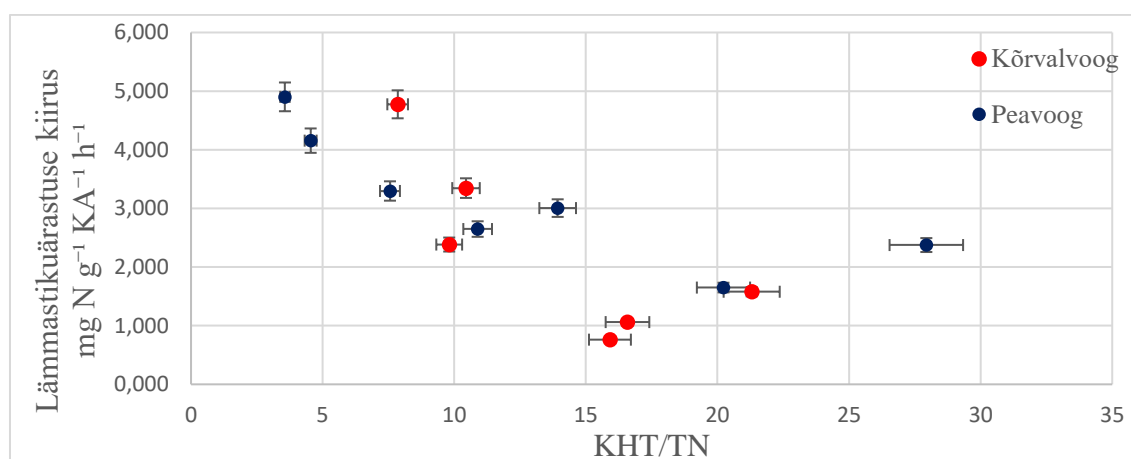
Meie katsete tulemuste põhjal võib järeldada, et kõige suurema kiirusega lämmastikuärastus nii peavoo kui ka kõrvalvoo ajal toimub C/N vahemikus 1,0 – 2,5 ning sel perioodil oli domineerivamaks lämmastikuärastuse meetodiks anammox. Tulemused vastavad ootustele ning on lähedased varasemate uuringute tulemustele.

### 3.3 KHT/TN suhe

Optimaalne KHT/TN suhe reovee puhastuses on  $1,2 \pm 0,2$ , mille käigus eemaldatakse lämmastik anammox protsessi ja denitrifikatsiooni kaudu. Kõrgema suhte korral üle 2,0 on



domineerivaks heterotroofsed bakterid. Siiski on uuringu tulemused näidanud, et anammox bakterid suudavad ellu jääda ka kõrgema KHT/TN suhte korral, kui keskkonnas on suurem hulk orgaanilist ainet, seda tänu heterotroofsetele bakteritele, mis orgaanilise süsiniku ära tarbivad. KHT/TN suhe on peamine faktor, mis mõjutab reaktoris olevate bakterite tööd. Kõrge KHT/TN suhe mõjub inhibeerivalt anammox bakteritele, vähendades nende aktiivsust kui ka mitmekesisust ning sellega koos kogu lämmastikuärastuse protsessi [32].

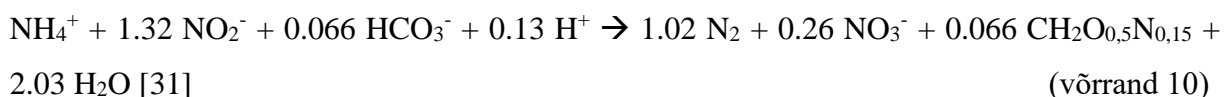


**Joonis 9. KHT/TN sõltuvus lämmastikuärastuse kiirusesse peavoo ning kõrvalvoo korral.**

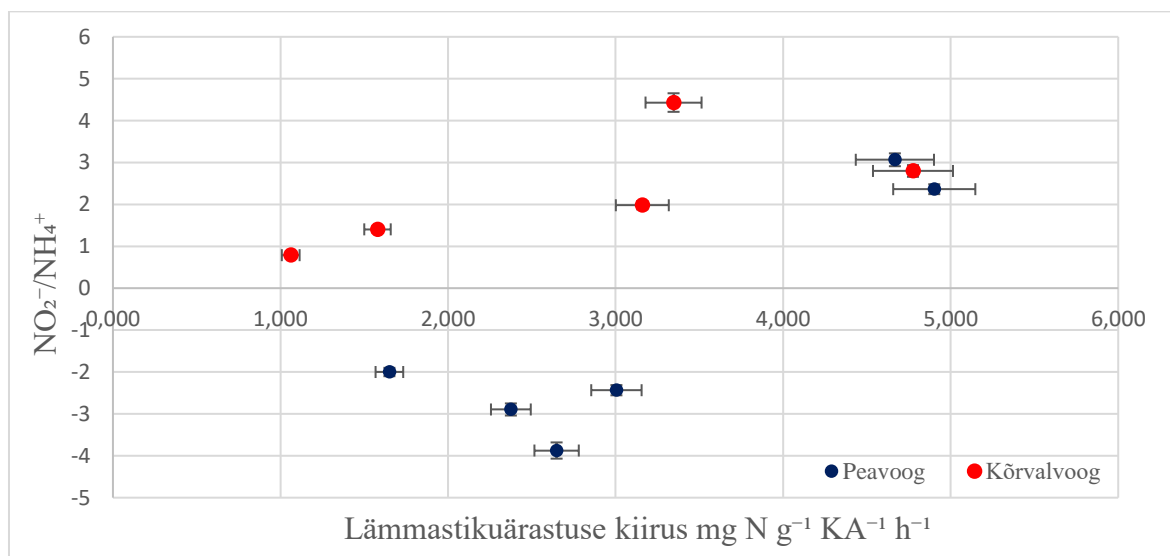
Meie katsetes osutus optimaalseimaks KHT/TN suhteks autotroofse protsessi jaoks 4,9, mille juures toimus lämmastikuärastus kiirusel  $\approx 5 \text{ mg N/g}^{-1} \text{ KA}^{-1} \text{ h}^{-1}$ . Kõrgematel suhetel 11/1 ja 16/1 domineeris lämmastikuärastuses denitrifikatsioon vastavalt saavutatud lämmastikuärastuse kiirusega  $\approx 3 \text{ mg N/g}^{-1} \text{ KA}^{-1} \text{ h}^{-1}$  ja  $\approx 1 \text{ mg N/g}^{-1} \text{ KA}^{-1} \text{ h}^{-1}$ . Lämmastikuärastus toimus väga hästi nii anammox kui ka denitrifikatsiooni abil KHT/TN suhetel 3,5 – 14. Kui suhe jäi kõrvalvoo ajal 16 – 17 vahele, langes lämmastikuärastuse kiirus märgatavalt  $\approx 1 \text{ mg N/g}^{-1} \text{ KA}^{-1} \text{ h}^{-1}$ . Joonisel 9 toodud graafikust on näha, kuidas KHT/TN suhete suurenedes lämmastikuärastuse kiirus väheneb.

### 3.4 NO<sub>2</sub><sup>-</sup>/NH<sub>4</sub><sup>+</sup> suhe

Anammox protsessi puhul on väga oluliseks hinnata tarbitud nitriti suhet tarbitud ammooniumisse, kuna antud suhe indikeerib anammox protsessi efektiivsust ja olemasolu diferentseerides seda heterotroofsetest lämmastikuärastusest, mille korral ammooniumi tarvet ei esine. NO<sub>2</sub><sup>-</sup>/NH<sub>4</sub><sup>+</sup> suhe peaks olema 1,3/1 [2], osade andmete järgi 1,32/1 (võrrand 10). Teoreetiliste arvutuste järgi jääb NO<sub>2</sub><sup>-</sup>/NH<sub>4</sub><sup>+</sup> suhe 1,0 – 1,5 vahele. Selles vahemikus toimib lämmastikuärastus anammox protsessi kaudu kõige tõhusamalt. Anammox protsessi efektiivsus muutub erinevate orgaanika sisaldustega reovete korral, mida mõjutab tarbitud nitriti suhe tarbitud ammooniumisse [31].

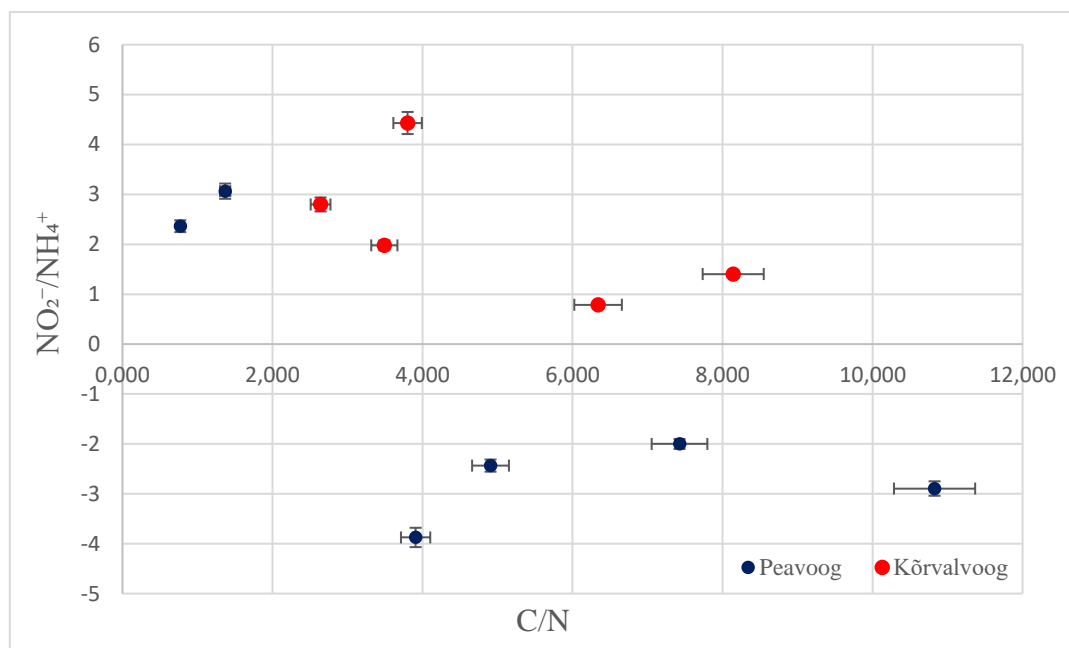


Meie katsete tulemuste järgi võib eeldada, et kui tarbitud nitriti suhe tarbitud ammooniumisse jääb vahemikku 0,5 – 3, siis on domineeriv anammox protsess, kui mitte, siis domineerib denitrifikatsioon.



**Joonis 10. Tarbitud NO<sub>2</sub><sup>-</sup> suhe tarbitud NH<sub>4</sub><sup>+</sup> ning selle suhte sõltuvus lämmastikuärastuse kiirusesse nii peavoo kui kõrvalvoo korral.**

Joonisel 10 on näha tarbitud nitriti suhet tarbitud ammooniumisse ning selle suhte sõltuvus lämmastikuärastuse kiirusesse nii peavoo kui kõrvalvoo korral. Katsete tulemuste põhjal saab järeldada, et sõltumata lämmastikuärastuse kiirusest toimub peavoos pigem denitrifikatsioon, mille indikatsiooniks on madal või olematu ammooniumi tarve võrreldes nitriti tarbega. Peavoo katsete korral, kus  $\text{NO}_2^-/\text{NH}_4^+$  suhe on alla 0,5, toimub ainult denitrifikatsioon. Anammox protsessi nende katsete korral ei toimunud, kuna ammooniumi sisaldus katsetes tõusis eeldatavalt dissimilatoorse nitraadi redutseerumise läbi ammooniumiks. Kui  $\text{NO}_2^-/\text{NH}_4^+$  suhe jäi peavoos 2,3 ja 3,1 vahele, toimus katsetes nii anammox kui ka denitrifikatsioon, kuid ammooniumi langemise tõttu võib eeldada, et domineeriv oli anammox. Anammox protsessi domineerimist kinnitab ka joonisel 11 olev  $\text{NO}_2^-/\text{NH}_4^+$  suhte sõltuvus C/N suhtesse graafik, millel on näha, et peavoos  $\text{NO}_2^-/\text{NH}_4^+$  suhetel 2,3 ja 3,1 on C/N suhe  $\approx 1$ .



**Joonis 11. Tarbitud  $\text{NO}_2^-$  suhe tarbitud  $\text{NH}_4^+$  ning selle suhte sõltuvus C/N suhtesse nii peavoo kui kõrvalvoo korral.**

Anammox protsessi jaoks on kõige ideaalsem reovesi, kus on madal C/N suhe. Seega võib järeldada, et nende kahe suhte korral oli domineerivaks anammox ning denitrifikatsioon toimis vähemal määral. Peavoo katsete korral on loogiline tulemus, et denitrifikatsioon on

domineerivam. Sellel on mitu võimalikku põhjust. Peavooga toitmise periood reaktoris, millest biokilekandjad annuskatseteks võeti kestis reaktoris 8 nädalat, seega sõltub katsete tulemus suuresti sellest, kas need on tehtud peavooga pikaajasel toitmisel või mitte. Kaks tulemust peavoost, mille korral domineeris anammox olid tehtud peavoo esimesel nädalal. Seega olid anammox bakterid veel piisavalt aktiivsed ning madal C/N suhe soodustas nende domineerimist. Mida kauem anammox bakterid peavoos on, seda väiksemaks muutub nende aktiivsus, kuna kõrge orgaanilise aine sisaldus ning madal temperatuur muutuvad inhibeerivaks. Suurema orgaanilise aine sisaldusega keskkonnas on heterotroofide kasvukiirus märksa suurem autotroofide omast, seega söövad denitrifitseerivad bakterid substraadi anammox bakterite eest ära.

Kõrvalvoo katsete korral olid pigem domineerivaks anammox protsess.  $\text{NO}_2^-/\text{NH}_4^+$  suhte korral 4,4 toimus anammox protsessi asemel denitrifikatsioon. Seda tõestab väga kõrge  $\text{NO}_2^-/\text{NH}_4^+$  suhe kui ka ammooniumi tõus kogu katse vältel. Selle põhjuseks võib olla katse tegemine kõrvalvoo esimesel nädalal, kui protsess ei toiminud veel täielikult ning peavoost üleminek mõjutas tulemust. Teiste kõrvalvoo katsete tulemuste korral võib väita, et domineeriv oli anammox protsess ning vähesel määral toimus ka denitrifikatsioon.

Joonisel 11 näeme, et kõrgema C/N suhte korral on  $\text{NO}_2^-/\text{NH}_4^+$  suhe madalam. Annuskatsed tõestasid, et reaktoris toimus nii anammox kui ka denitrifikatsioon üheaegselt, vastavalt keskkonna tingimustele domineeris üks või teine.

## 4. Kokkuvõte

Käesoleva bakalaureusetöö eesmärk oli uurida, kuidas mõjutab peavoo ja kõrvalvoo vahetamine autotroofset lämmastikuärastust. Samuti kuidas mõjutab madal temperatuur ning orgaanika kogu protsessi efektiivsust. Annuskatsetes kasutatud biokilekandjad võeti Tartu Ülikooli reovee labori piloot-reaktorist, mis töötab vahelduva aeratsiooniga (55 minutit aereerimist + 5 minutit anoksilist faasi). Määratud tulemuste põhjal anti hinnang, kas lämmastikuärastus toimus pigem denitrifikatsiooni või anaeroobse ammooniumi oksüdatsiooni kaudu. Lisaks leiti, milliste parameetrite juures oli kiirus kõige suurem.

Peavoo on domineeriv denitrifikatsioon. Tehtud katsete põhjal võib järeldada, et peavoo alguses toimub autotroofne lämmastikuärastus nii denitrifikatsiooni kui ka anammox protsessi kaudu. Peavoo pikem kestus hakkab mõjutama anammox bakterite aktiivsust, mis muutub järjest väiksemaks madala optimeerimise temperatuuri tõttu. Lõpuks toimub peavoo lämmastikuärastus vaid denitrifikatsiooni kaudu ning ammooniumi kontsentratsiooni tõus on tingitud dissimilatoorsest nitraadi redutseerumisest ammooniumiks.

Peavoo kõrge orgaanilise aine sisaldus on tunduvalt sobivam denitrifitseerija bakteritele, kuna heterotroofsed bakterid suudavad sellises keskkonnas toimida palju efektiivsemalt. Samuti ei mõjuta suurel määral denitrifikatsiooni läbiviivaid baktereid temperatuuri kõikumine. Autotroofsed anammox bakterid seevastu muutuvad suure orgaanilise sisaldusega lahuses, kus on madal temperatuur, mitteaktiivseks. Nendele bakteritele on sobivam kõrvalvoo keskkond, kus on kõrgem temperatuur ning madalam orgaanilise aine sisaldus. Tulemuste põhjal võib järeldada, et anammox protsess on lämmastikuärastuseks tõhusam viis kui denitrifikatsioon. Seda eriti meie piloot-reaktoris, mis on varasemalt kultiveeritud vaid orgaanikavaese veega ning anammox bakteritel on seetõttu olnud sobiv keskkond kasvamiseks. Seega pikaajased autotroofid suudavad anammox protsessil lämmastiku paremini ja kiiremini eemaldada.

Lämmastikuärastamine reoveest anaeroobset ammooniumi oksüdatsiooni kasutades on väga tõhus ning energiasäästlik protsess. Praeguste uuringute tulemuste järgi on liiga vähe teada, kuidas mõjutab madal temperatuur anammox bakterite tööd. Kui anammox protsessiga saab ühel hetkel lämmastiku ärastada suurest kogusest reovees väga madalal temperatuuril, siis võib seda pidada reoveepuhastuse suureks revolutsiooniks.

## Summary

### **Nitrogen removal denitrification – anaerobic ammonium oxidation process in biofilm reactor**

#### **Kairi Nuija**

The aim of the Bachelor's thesis was to investigate how the change of mainstream and sidestream is affected by autotrophic nitrogen removal. Also, how the low temperatures and low organic affects efficiency of the process. Biofilm carriers used in the tests were taken from the University of Tartu wastewater laboratory's pilot reactor, which operated with alternating aeration (55 minutes aeration + 5 minutes anoxic phase). Based on the determined results, the assessment was made whether nitrogen removal was carried out through denitrification or anaerobic ammonium oxidations. In addition, it was found which parameters had the highest effect on nitrogen removal rate.

Denitrification is the dominant in mainstream. Based on the performed experiments, it can be concluded that autotrophic nitrogen removal occurs at the beginning of the mainstream, both through denitrification and the anammox process. The longer duration of the peak will start to affect the activity of anammox bacteria, which is becoming increasingly diminishing due to the low optimization of temperature. Finally, nitrogen removal in the mainstream is carried out only through denitrification and the increase in ammonium concentration is due to the dissimilar nitrate reduction to ammonia.

The high organic matter content of the mainstream is much more suitable for denitrificator bacteria, because heterotrophic bacteria can operate more efficiently in such an environment. Also, the degree of fluctuation of the denitrification is not affected by the temperature. On the other hand, autotrophic anammox bacteria, turn out to be in a solution with a high organic content, where the low temperature is inactive. For these bacteria, a more suitable sidestream environment with higher temperatures and lower organic content is more appropriate. Based on the results, it can be concluded that the anammox process is more effective than denitrification. This is especially true in our pilot reactor, which was previously cultivated only with organic water, and therefore the anammox bacteria have been suitable for growth. Therefore, long-term autotrophs can remove nitrogen better and faster in the anammox process.

Nitrogen removal from wastewater using anaerobic ammonium oxidation is a very efficient and energy-saving process. According to the results of current studies, there is not enough

information how low temperatures affect the work on anammox bacteria. If the anammox process can at one point remove nitrogen from wastewater at very low temperatures, it can be considered a major revolution in wastewater treatment.

## Kasutatud kirjandus

1. S. Lackner, E. M. Gilbert, S. E. Vlaeminck, A. Joss, H. Horn, M. C. M van Loosdrecht, Full-scale partial nitrification/anammox experiences – An application survey. ScienceDirect 55 (2014) p. 292 – 293
2. A. B. Szatkowska, B. Paulsrud, The anammox process for nitrogen removal from wastewater – achievements and future challenges. Vann (2014) p. 186 – 191
3. G. Li, R. Sierra-Alvarez, D. Vilcherrez, S. Weiss, C. Gill, MJ Krzmarzick, L. Abrell, JA. Field, Nitrate Reverses Severe Nitrite Inhibition of Anaerobic Ammonium Oxidation (Anammox) Activity in Continuously-Fed Bioreactors. Journal Citation Reports 50 (2016) p. 10518 – 10526
4. S-Q. Ni, J. Zhang, Anaerobic Ammonium Oxidation: From Laboratory to Full-Scale Application. BioMed Research International. 2013 (2013) p. 1 – 10
5. T. Lotti. Developing Anammox for mainstream municipal wastewater treatment. <https://repository.tudelft.nl/islandora/object/uuid:3d1b9efb-557d-4f9f-8140-08dd03b2c739> viimati uuendatud 21.01.2016
6. Fluence news team. What Is Denitrification? <https://www.fluencecorp.com/what-is-denitrification/> viimati kasutatud 18.04.2018
7. M. C. M van Loosdrecht, X. Hao, M. S. M. Jetten, W. Abma, Use of Anammox in urban wastewater treatment. Water Science and Technology: Water Supply. 4 (2004) p. 87 – 90
8. I. Fernandez, J. Dosta, C. Fajardo, J.L. Campos, A. Mosquera-Corral, R. Mendez, Short- and long-term effects of ammonium and nitrite on the Anammox process. Journal of Environmental Management 95 (2012) p. 170
9. Z. Taotao, L. Dong, L. Wei, Nitrogen removal and functional bacteria distribution of ANAMMOX at ambient temperature. Journal of water reuse and desalination. 6 (2016) p. 476 – 479
10. B. Stauffer, D. Spuhler. Anammox <https://www.sswm.info/water-nutrient-cycle/wastewater-treatment/hardwares/semi-centralised-wastewater-treatments/anammox> viimati kasutatud 03.04.2018
11. M. E. Grismer, R. S. Collison, The Zeolite-Anammox Treatment Process for Nitrogen Removal from Wastewater – A Review. Journal Water. 901 (2017) p. 5
12. S. Schmidt. Bacteria may supercharge the future of wastewater treatment.



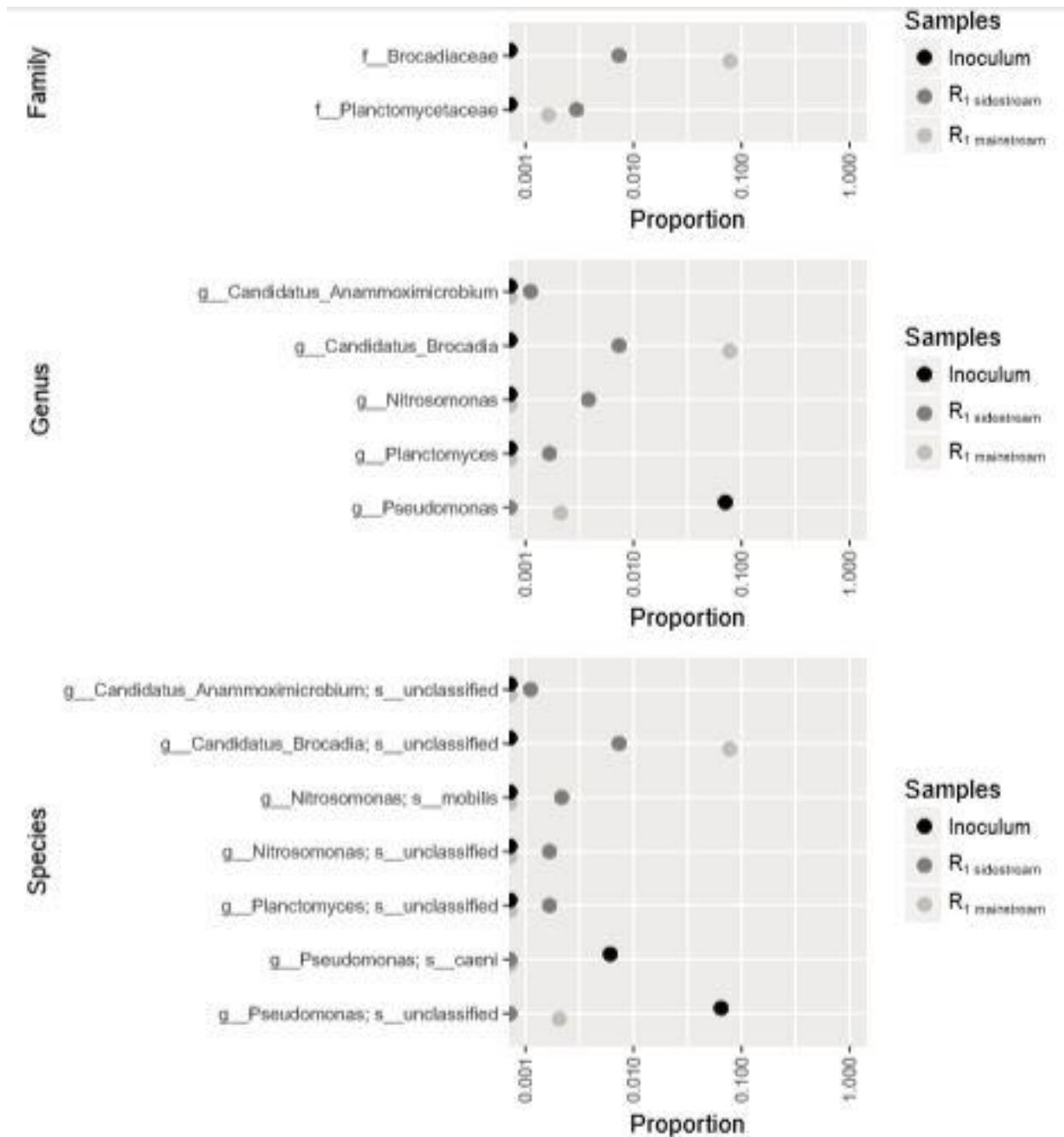
<https://news.wisc.edu/bacteria-may-supercharge-the-future-of-wastewater-treatment/>  
viimati uuendatud 31.05.2017

13. A. Jalilzadeh, R. Nabizadeh, A. Mesdaghinia, A. Azimi, S. Nasser, A. H. Mahvi, K. Naddafi, Optimization and Modelling of Chemical Oxygen Demand Removal by ANAMMOX Process Using Response Surface Methodology. *Journal of Chemistry*. 2013 (2013) p. 1-2
14. R-C. Jin, G-F. Yang, J-J. Yu, P. Zheng, The inhibition of the Anammox process: A review. *Chemical Engineering Journal*. 197 (2012) p. 68-69
15. H. Xie, D. Ji, L. Zang, Effects of Inhibition Conditions on Anammox process. *Earth and Environmental Science*. 100 (2017) p. 1-2, 4
16. H. L. Ehrlich, D. K. Newman, *Geomicrobiology Fifth Edition*, Taylor & Francis Group, New York, 2009, p. 237
17. D.A. Martens, Denitrification. *Encyclopedia of Soils in the Environment*, Tucson, 2005, p. 378
18. Nitrogen Cycle: Denitrification  
<http://agriinfo.in/?page=topic&superid=5&topicid=165> viimati kasutatud 18.04.2018
19. K. Biswas, S. J. Turner, Microbial Community and Dynamics of Moving Bed Biofilm Reactor Systems Treating Municipal Sewage. *Applied and Environmental Microbiology*. 78 (2011) p. 855
20. A. Zafarzadeh, B. Bina, M. Nikaeen, H. M. Attar, M. H. Khiadani, Effect of dissolved oxygen and chemical oxygen demand to nitrogen ratios on the partial nitrification/denitrification process in moving bed biofilm reactors. *Iranian journal of biotechnology*. 9 (2011) p. 198
21. H. Ødegaard, The Moving Bed Biofilm Reactor. *Water Environmental Engineering and Reuse of Water*. (1999) p. 205 – 208
22. J. Y. Jing, J. Feng, W. Y. Li, Carrier effects on oxygen mass transfer behavior in a moving-bed biofilm reactor. *Asia-Pacific journal of Chemical engineering*. 4 (2009) p. 618 - 619
23. A. G. Capodaglio, P. Hlavinek, M. Raboni. Advances in wastewater nitrogen removal by biological processes: state of the art review.  
[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1980-993X2016000200250](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1980-993X2016000200250)  
viimati uuendatud juuni 2016

24. B. Szatkowska, G. Cema, E. Plaza, J. Trela, B. Hultman, A one-stage system with partial nitrification and anammox processes in the moving-bed biofilm reactor. *Water Sci Technol.* 55 (2007) p. 19
25. T. Lotti, R. Kleerebezem, Z. Hu, B. Kartal, M. K. de Kreuk, C. van Erp Taalman Kip, J. Kruit, T. L. G. Hendrickx, M. C. M. van Loosdrecht, Pilot-scale evaluation of anammox-based mainstream nitrogen removal from municipal wastewater. *Environmental Technology.* 36 (2015) p. 1167
26. Hamdy H. Hassan, Ibrahim H.A. Badr, Hesham T.M. Abdel-Fatah, Esmat M.S Elfeky, Ali M. Abdel-Aziz, Low cost chemical oxygen demand sensor based on electrodeposite nano-copper film. *Arabian Journal of Chemistry.* 11 (2015) p. 171
27. Chemical Oxygen Demand (COD)  
<https://realtechwater.com/parameters/chemical-oxygen-demand/> viimati kasutatud 30.04.2018
28. Betsey Seibel.  
<http://blog.teledynetekmar.com/blog/bid/392322/understanding-total-organic-carbon-toc-and-why-it-should-be-measured> viimati uuendatud 21.07.2014
29. Y. Miao, Y. Peng, L. Zhang, B. Li, X. Li, L. Wu, S. Wang, Partial nitrification-anammox (PNA) treating sewage with intermittent aeration mode: Effect of influent C/N ratios. *Chemical Engineering Journal.* 334 (2018) p. 664 - 665, 671
30. S. Lackner, H. Horn, Comparing the performance and operation stability of an SBR and MBBR for single-stage nitrification-anammox treating wastewater with high organic load. *Environmental Technology.* 34 (2013) p. 1319 – 1321, 1325
31. M. Hassan, H. Wei, H. Qiu, Y. Su, S. W. H. Jaafry, L. Zhan, B. Xie, Power generation and pollutants removal from landfill leachate in microbial fuel cell: Variation and influence of anodic microbiomes. *Bioresource Technology.* 247 (2018) p. 435, 439
32. C. Wang, S. Liu, X. Xu, C. Zhang, D. Wang, F. Yang, Achieving mainstream nitrogen removal through simultaneous partial nitrification, anammox and denitrification process in an integrated fixed film activated sludge reactor. *Chemosphere.* 203 (2018) p. 457 - 458

# Lisad

Lisa 1. Reaktoris olevate bakterite perekonnad ja nende proportsioonid.



## **Tänu sõnad**

Töö autor soovib tänada inimesi, kes on olnud abiks bakalaureusetöö valmimisel:

Ivar Zekker

Kristel Kroon

Anne Paaver

Christina Mürk

Anni Mandel

Kati Klein

## **Litsents lõputöö reprodutseerimiseks ja lõputöö üldsusele kättesaadavaks tegemiseks**

Mina, Kairi Nuija,

annan Tartu Ülikoolile tasuta lihtlitsentsi enda loodud teose „Lämmastikuärastus denitrifikatsiooni – anaeroobse ammoonium oksüdatsiooni abil biokilesüsteemis“, mille juhendaja on Ivar Zekker,

reprodutseerimiseks, säilitamiseks ja üldsusele kättesaadavaks tegemise eesmärgil, sealhulgas digitaalarhiivi DSpace-is lisamise eesmärgil kuni autoriõiguse kehtivuse tähtaja lõppemiseni;

üldsusele kättesaadavaks tegemiseks Tartu Ülikooli veebikeskkonna kaudu, sealhulgas digitaalarhiivi DSpace-i kaudu kuni autoriõiguste kehtivuse tähtaja lõppemiseni.

Olen teadlik, et kõik õigused jäävad alles ka autorile.

Kinnitan, et lihtlitsentsi andmisega ei rikuta teiste isikute intellektuaalomandi ega isikuandmete kaitse seadusest tulenevaid õigusi.

Tartus, 30.05.2018